

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-324047

(43)Date of publication of application : 25.11.1994

(51)Int.Cl.

G01N 33/579

(21)Application number : 05-159924

(71)Applicant : WAKO PURE CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 13.05.1993

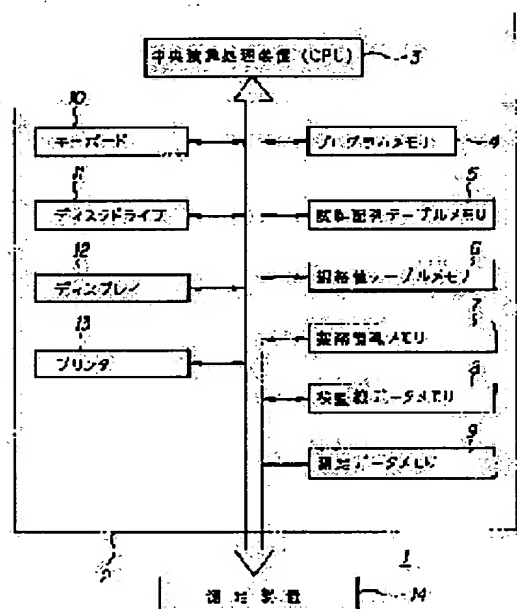
(72)Inventor : OISHI HARUKI
FUSAMOTO MASASHIGE

(54) MEASURING APPARATUS FOR ENDOTOXIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To automatically detect whether the test when the quantity of endotoxin is measured is valid and whether the preparation of products is proper, and to check necessary conditions for starting the test before the measurement is started thereby to completely avoid waste brought about if the measurement is tried again.

CONSTITUTION: The apparatus is provided with a preserving means 5 for preserving at least the arrangement of kinds of samples of specimens and comparison specimens, means 9, 14 for measuring the reaction of a to-be-inspected sample which is a mixture of the specimen or comparison specimen with a reagent thereby generating a measuring value, means 6, 7, 8 for preserving conditions to execute calculations to the measuring value of the to-be-inspected sample, and means 10, 11 for inputting a predetermined data to each preserving means. Further, the apparatus has judging means 3, 4 and means 12, 13 for outputting the result of tests. Each judging means 3, 4 suitably combines the contents of the preserving means in accordance with the kind of a test, detecting necessary conditions for starting the test, performing calculations from the measuring value and the content of each preserving means and judging the validity of the test and whether the calculated value is proper.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

14.01.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3322282

[Date of registration]

28.06.2002

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-324047

(43)公開日 平成6年(1994)11月25日

(51)Int.Cl.⁵

G 0 1 N 33/579

識別記号

庁内整理番号

8310-2 J

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数1 F D (全 8 頁)

(21)出願番号 特願平5-159924

(22)出願日 平成5年(1993)5月13日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成5年3月5日、
社団法人日本薬学会発行の「日本薬学会第113年会講演
要旨集」に発表

(71)出願人 000252300

和光純薬工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番2号

(72)発明者 大石 晴樹

兵庫県尼崎市高田町6-1 和光純薬工業
株式会社大阪工場内

(72)発明者 房本 正滋

兵庫県尼崎市高田町6-1 和光純薬工業
株式会社大阪工場内

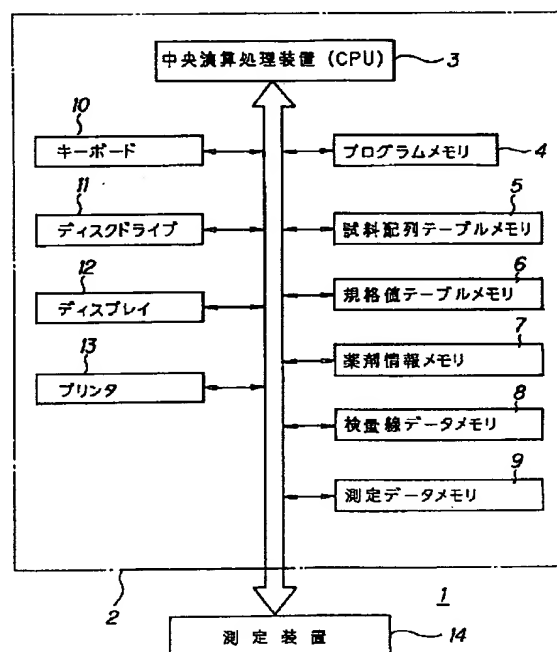
(74)代理人 弁理士 萩野 平 (外3名)

(54)【発明の名称】 エンドトキシン測定装置

(57)【要約】

【目的】 エンドトキシン量を測定し、その試験の有効性の判定および製品製剤の合否の判定を自動的に実行すると共に、試験開始の必要条件を測定開始前にチェックして測定のやり直しによる無駄を完全に排除する。

【構成】 少なくとも検体および比較検体の試料種類の配列を保存する手段(5)、検体あるいは比較検体と試薬を混合した被検試料の反応を測定し測定値を生成する手段(9、14)、被検試料の測定値に対して演算を行う条件を保存する手段(6、7、8)、前記各保存手段に所定データを入力する手段(10、11)、試験の種類に応じて前記各保存手段の内容を適宜組合せ処理しかつ試験開始の必要条件を判定すると共に、前記測定値と前記各保存手段の内容から演算を行いかつ試験の有効性および算出した演算値の合否判定を行う手段(3、4)、試験の結果を出力する手段(12、13)を有する。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも検体および比較検体の試料種類の配列を保存する手段、検体あるいは比較検体と試薬を混合した被検試料の反応を測定し測定値を生成する手段、被検試料の測定値に対して演算を行う条件を保存する手段、前記各保存手段に所定データを入力する手段、試験の種類に応じて前記各保存手段の内容を適宜組合せ処理しかつ試験開始の必要条件を判定すると共に、前記測定値と前記各保存手段の内容から演算を行いかつ試験の有効性および算出した演算値の可否判定を行う手段、試験の結果を出力する手段、を有することを特徴とするエンドトキシン測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、製品製剤等のエンドトキシン試験を行なう分析装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】エンドトキシンは、発熱性物質（ピロジェン）の代表的なものであり、エンドトキシンの混入した血液、輸液、注射液の使用、あるいはエンドトキシンで汚染された医療器具の使用等により、エンドトキシンが生体内に注入されると強い発熱やショックなどの重篤な副作用を引き起こすことが知られている。従って、これら製品製剤等においてはその中のエンドトキシン量を測定し、その混入を防ぐことが必要不可欠である。

【0003】実際のエンドトキシン測定においては、エンドトキシンが大量に存在する通常的环境下で検体中のエンドトキシンをピコグラムレベルで検出しなければならず、環境からの汚染が常に問題となる。このため、反応に使用するカプトガニ血球抽出物試薬（カプトガニ試薬）や、器具の取扱など、測定手技に熟練が必要であり、汚染のない正しい手技で測定が実施されたかどうかを常にチェックする必要がある。通常、この目的で、エンドトキシンを含まない検体を陰性対照として同時に測定を行い、この試料が所定の反応率以下の反応しか示さないことを確認している。また、所定濃度のエンドトキシンを含むエンドトキシン標準検体で作成した検量線の相関係数が所定の範囲内にあることを確認している（測定操作の正当性チェック）。

【0004】また、カプトガニ試薬とエンドトキシンの反応は、測定対象となる製品製剤中のさまざまな化学物質の影響（阻害あるいは促進）を受ける場合が多いため、そのような影響の少ない適正な反応条件の下で測定が行われたかをチェックする必要がある。このためには、試料中に所定濃度のエンドトキシンを添加して、カプトガニ試薬との反応率が所定の範囲内にあることを確認して、反応条件（一般に検体となる薬剤の希釈率）を求める予備試験を実施することが一般的である（試験薬剤の阻害促進チェック）。

【0005】日常の検査においては、陰性対照測定のチ

2

ェック、また時として一定のエンドトキシンを添加した陽性対照のチェック、事前に決定された反応（希釈）条件の検体にエンドトキシンを添加して（エンドトキシンスパイク検体）その時の測定でも反応の適正条件が再現されているかどうかのチェックを常に行いながら（日常検査チェック）、さまざまな検体に含まれるエンドトキシン量の測定を行わなければならない。また、それぞれの製品製剤の種類毎に適正な反応条件が成立する濃度や、測定に必要な感度、許容できるエンドトキシン濃度の規格値が異なっているため、多くの検体を測定する際には正しい条件で測定が実施されているかどうかをチェックするのに煩雑な手続きを要する。

【0006】現在、エンドトキシンとカプトガニ試薬との反応を測定し検量線に基づいてエンドトキシン濃度を求める装置が市販されている。例えばマイクロプレートリーダーを用いる合成基質法、専用装置を用いる比濁時間法（特開昭61-11641）である。これらの装置を用いる測定では、エンドトキシン濃度を求めることはできるが、先に述べた測定操作の正当性チェック、試験薬剤の阻害促進チェック、日常検査チェック等は測定操作者が測定値を使って手作業で行わなければならない。

【0007】エンドトキシンとカプトガニ試薬の反応はその高感度のために、毎回同じ測定絶対値を得ることが難しく測定結果の妥当性の評価と検体濃度の演算のために必ず比較検体（上述した陰性対照、陽性対照、スパイク検体、エンドトキシン標準検体など）を用いる。このような事情と試薬が極めて高価であることから、同時に多くの検体を測定し、個々の検体測定に必要な比較試料を共用して試料数を減らすと共に、同時反応で、相互に比較するデータの再現性を向上させることが多い。このような多数の被検試料を測定する場合には、チェック項目も増え、正しい結果を得るのに更に熟練を要する。また、検体とカプトガニ試薬との反応は不安定なため、必要なチェック項目が一つでも実施されていなかった場合には、その項目の再測定だけでなく、同時に比較が必要な検体、比較試料すべての測定を同時に再度やり直さなければならない。たとえば、検量線の感度が足りないとか、希釈がMVD（最大有効希釈倍率：反応希釈条件が有効とみなせる希釈倍率の最大値）を超えているとか、チェックに必要な比較検体が測定されていないとか、比較検体の数が規格を満たしていないとかの場合には、不備のあった試料の再測定だけでなく測定の全体をやり直す必要がある。

【0008】

【本発明が解決しようとする課題】すなわち、従来技術では、特に、多くの検体を同時に測定する際に、それぞれの検体が必要とする測定条件および個々の試験（測定操作の正当性チェック、試験薬剤の阻害促進チェック、日常検査など）が必要とする設定条件など、測定に必要な種々の条件の設定は複雑で熟練を要するものであり、

50

測定後に必要条件が揃ってなかったことによる測定のやり直しが発生した場合に、全測定のやり直しを招き、多大な労力および時間の無駄と、諸経費の増加を生じた。この発明は上記課題を解決するためになされたものであり、エンドトキシン量を測定しその試験の有効性の判定と、製品製剤の可否の判定を自動的に実行すると共に、試験開始の必要条件を測定開始前にチェックして測定のやり直しによる無駄を完全に排除できるエンドトキシン測定装置を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】この発明の上記目的は、少なくとも検体および比較検体の試料種類の配列を保存する手段、検体あるいは比較検体と試薬を混合した被検試料の反応を測定し測定値を生成する手段、被検試料の測定値に対して演算を行う条件を保存する手段、前記各保存手段に所定データを入力する手段、試験の種類に応じて前記各保存手段の内容を適宜組合せ処理しかつ試験開始の必要条件を判定すると共に、前記測定値と前記各保存手段の内容から演算を行いかつ試験の有効性および算出した演算値の可否判定を行う手段、試験の結果を出力する手段、を有することを特徴とするエンドトキシン測定装置により達成される。

【0010】

【実施例】以下、本発明の一実施例を図面に基づいて説明する。なお、本発明の実施例を、エンドトキシン試験の品質管理手順として米国食品医薬局(FDA: Food and Drug Administration)が公布しているガイドラインを例にとって説明する。このガイドラインでは、実際の製品製剤の日常検査を実施する時以下のように行なう。検体として、製品検体、また比較検体として、エンドトキシンバイク検体、エンドトキシン標準検体、陰性対照を少なくとも2反復含める。また、エンドトキシン標準検体は4濃度以上含める必要がある。エンドトキシンスバイク検体とは、製品検体に既知量のエンドトキシンを添加したものである。測定の結果、陰性対照がある濃度以上になった場合、あるいはエンドトキシン標準検体の一次回帰式の相関係数の絶対値がある値以下になった場合には、その試験は無効と判定される。実際の製品検体については、エンドトキシンスバイク検体のエンドトキシン濃度から製品検体のエンドトキシン濃度を差し引いた値が、添加したエンドトキシン濃度の $\pm 25\%$ 以内であり、製品検体のエンドトキシン濃度が製品によって規定されている限界値以内であれば試験合格とする。

【0011】図1はこの実施例のエンドトキシン測定装置の構成を示している。このエンドトキシン測定装置1は、大別してコンピュータシステム2、測定装置14から構成される。各装置は必要に応じてデータを伝送可能なケーブルでつながれている。コンピュータシステム2は、中央演算処理装置(CPU)3、メモリ群4~9、入出力群10~13を備える。各デバイスは、バス及びイン

ターフェースを介してつながれている。

【0012】プログラムメモリ4には、種々のパラメータの設定及び測定装置を動作させデータを取得するために必要なプログラムが保存される。測定データメモリ9は、測定装置から得られる測定データあるいは測定データを適当に加工したデータを格納する。検量線データメモリ8には、測定データをエンドトキシン濃度に換算するための検量線データが保存される。キーボード10は条件設定、ファイル名の記入、出力形式を指定する場合等にコマンドを入力するために用いられる。ディスクドライブ11、ディスプレイ12、プリンタ13は汎用のものである。

【0013】試料配列テーブルメモリ5は、試料設定テーブルを記憶する。これは測定装置14に配置された各試料毎に、製品検体、エンドトキシンスバイク検体、エンドトキシン標準検体、陰性対照等の試料種類の配列が記憶されたテーブルである。規格値テーブルメモリ6は、その検体種類に応じたパラメータ値(例えばエンドトキシン標準検体ならばエンドトキシン濃度値、製品検体であれば希釈率、エンドトキシンスバイク検体であれば添加エンドトキシン濃度等)と、試験開始の必要条件チェックの基準値と、試験の有効性の判定及び試験薬剤の可否判定の規格値等を記憶する。これらには、例えば検量線相関係数の有効限界値、エンドトキシン添加回収率の有効限界値等が含まれる。検体種類に応じたパラメータ値は、試料配列に付随したデータとしてメモリ5に置くことも可能である。薬剤情報メモリ7は、試験する薬剤に関する情報を記憶する。これには例えば、その薬剤の名称、エンドトキシン限度値、力価等が含まれる。メモリ6、7、8に記憶された内容によって、被検試料の測定値に対して演算を行なう条件が決定される。演算を行う条件は、ここで述べた以外に、例えば1つのメモリに統合したり、ここで述べたのとは別の区分を行ったメモリに分割して保存することもできる。また、これらの情報内容は一度設定しておけば、日常検査以外の試験でも利用可能な共有情報とすることができる。

【0014】測定装置14は、光学的(比色あるいは比濁等)にエンドトキシン量を測定する装置で、試料保持部と発光部と受光部からなる。複数の試料を並列に測定するために、複数の試料保持部、発光部、受光部を持つこともある。この装置14は、合成基質法あるいは比濁時間法等によって測定値を生成することができる。従来の装置では、試料配列テーブルメモリ5、規格値テーブルメモリ6、薬剤情報メモリ7を備えておらず、当然検量線計算以外の処理は不可能であった。

【0015】次に実施例の装置の動作を日常検査を例にして、図2のフローチャートに従って説明する。ステップ1において、オペレータは試料配列データをキーボードから入力する。あるいは、あらかじめ設定保存してあるデータを外部記憶装置から読み込むことで入力するこ

10

20

30

40

50

とも可能である。外部記憶装置としては例えば、フロッピーディスク、ハードディスク、光磁気ディスク、メモリカードなどが利用できる。この設定は、メモリ5に記憶される。必要ならば、ステップ2において、あらかじめ測定した検量線データを外部記憶装置等から入力し、メモリ8に記憶する。ステップ3では、試験の有効性判定及び製品検体の合否判定の規格値データ等をキーボードから入力し、メモリ6に記憶する。メモリ6への入力は、同様に外部記憶装置を通して行なうことができる。

【0016】ステップ4では、試験薬剤の名称、力価、エンドトキシン許容限界値等の試験薬剤に関する情報を入力し、メモリ7に記憶する。薬剤情報の個々の項目をマニュアルで入力する代わりに、あらかじめこれらの項目が登録された外部記憶装置上のデータベースファイルから、薬剤の名前を指定して入力することもできる。メモリ5、6、7、8は、コンピュータ内部のRAMでもよいし、外部記憶装置であってもよい。以上、ステップ1から4の入力の実行においては、個々の入力を更に分けて行なったり、あるいは複数の入力をまとめて行なうなどプログラムに応じて種々のやり方が可能である。

【0017】ステップ51では日常検査等試験の種類をキーボード等から指定し、ステップ52では、設定された試料配列データ、演算の条件から、目的とする試験開始の必要条件が満たされているかどうかチェックする。チェックに先だて、ステップ1から4で個別に設定した情報から、試験の目的に応じて、新たにチェックの基準値を作成する場合もある。例えば、規格値テーブルメモリ6にあるエンドトキシン標準検体のエンドトキシン濃度の最小値と薬剤情報メモリ7にある試験薬剤のエンドトキシン限界値から各々の検体についてMVDを算出する場合等がある。試験開始の必要条件のチェックは、CPUがプログラムに従って行なう。チェック内容として例えば、陰性対照、エンドトキシン標準検体、製品検体、エンドトキシンスバイク検体の検体数・繰り返し数のチェック、製品検体の希釈倍率がMVDを超えていないかのチェック等が実施される。もし必要条件が満たされていない場合には、満たされるまで次のステップに移れず、最初のステップから繰り返すことになる。この時、不当な条件設定の内容を報知し警告を発することもできる。

【0018】ステップ52において必要条件が満たされた場合にのみ、実際の測定に移ることができる。すなわち、間違っただけで測定をスタートすることがないので、全測定のやり直しという事態を招くことはない。本発明では、メモリ5、6、7、8にある情報は試験の種類とは独立した個別情報として共有されており、試験の目的に応じて適宜選択組み合わせられ処理される。ステップ6では、試料を測定装置14で測定する。測定データは、メモリ9に記憶される。メモリ9は、測定装置14内あるいは外部記憶装置に置くこともできる。

【0019】全試料の測定が終了した時点で、ステップ

7に移り、もし試料配列テーブルメモリにエンドトキシン標準検体が設定されているならば、エンドトキシン標準検体の測定データから検量線の計算を実行し、検量線データをメモリ8に記憶する。そして、ステップ8に移り、検量線データ（ステップ2において読み込んだデータあるいはステップ7において計算されたデータ）を使用して、測定データから全ての試料のエンドトキシン濃度値を算出する。ステップ9においては、メモリ5、6、7、8に記憶されている情報を基に、各試料毎に出カデータの演算及び規格値と照合するための規格照合値の演算を実行する。ステップ7、8、9は、CPUがプログラムに従って行なう。

【0020】ステップ10では、試験の有効性を処理された演算値から判定する。陰性対照検体に対して、算出された濃度値が規格値以下であれば有効である。検量線データに対して、その一次回帰の相関係数の絶対値が規格値以上であれば有効である。ステップ11では、演算値を処理して、試験薬剤に対する合否の判定を行なう。まず、ステップ9において算出されたエンドトキシンスバイク検体のエンドトキシン添加回収率が、メモリ6にある規格値の範囲内にあるかどうかチェックする。さらに、ステップ9において算出された製品検体の濃度値が、メモリ7に記憶されているその薬剤に対するエンドトキシン許容限界値以下であるかどうかチェックする。以上2点の条件が満たされている場合のみ、試験薬剤は合格であると判定される。ステップ10の試験の有効性の判定とステップ11の合否の判定は、CPUがプログラムに従って行なう。

【0021】最後にステップ12において、試験の有効性、製品薬剤の合否判定を含めた試験結果のレポートが、ディスプレイ12あるいはプリンタ13に出力される。あるいは、外部記憶装置上にデータを出力したり、通信回線を通してデータを転送することもできる。測定操作の正当性チェック試験・試験薬剤の阻害促進チェック試験においても、試料配列テーブル5、規格値テーブル6、薬剤情報メモリ7、検量線データメモリ8の設定内容を使って、ステップ51と52で各試験毎に設定されている試験開始の必要条件をチェックすることにより、間違っただけで測定を開始し、再測定をしなければならないような事態を回避できる。また、複数の試験を同時に行なう場合、同様にステップ51で複数試験の同時実施の指定を行なうことにより試験開始の必要条件がチェックでき、更に各試験間で共有できる情報（例えば、比較検体の配列、規格値など）と比較検体等の測定データを組み合わせ、必要最小限の試料で各試験毎に設定されている試験の有効性を判定することもできる。

【0022】ここでは、FDAガイドラインを例にとりて、本発明を説明したが、本発明の装置によれば、プログラムメモリに含まれる試験開始の必要条件チェック等の内容及び、メモリ5、6、7に入力する内容を変更す

るだけで、このガイドラインに定められた以外のさまざまな試験方法、規格に容易に、柔軟に対応が可能である。例えば、図3に示すように、異なる試験手順をプログラムしたサブルーチン群を記憶するメモリ15を追加することにより、方法の異なる試験を同時に実施する場合でも、試験開始の必要条件のチェック、測定後の試験の有効性のチェック、検体の可否の判定を実施可能なシステムとなる。このような方法の異なる試験を行なう検体を同時に測定するシステムによれば、陰性対照、エンドトキシン標準検体等の比較検体を全ての試験で共用して試料数を減らし、高価なカプトガニ試薬の使用を節約することが可能である。

【0023】

【発明の効果】以上のように、これまでは試験の有効性、製品製剤の可否を自動的に実行しその結果を出力するエンドトキシン測定装置は存在しなかったのに対し、本発明によれば、単にエンドトキシン量を測定するだけでなく、その試験の有効性の判定と、製品製剤の可否の判定を自動的に実行し、その結果のレポート出力までを実行できるエンドトキシン測定装置の提供が可能となる。また、試験開始の必要条件を測定開始前にチェックできるので、測定のやり直しによる無駄を完全に排除できる。さらに、複数試験の同時実行により比較検体の共有が可能のため、高価なカプトガニ試薬の使用量を減ら

すことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例によるエンドトキシン測定装置の構成図である。

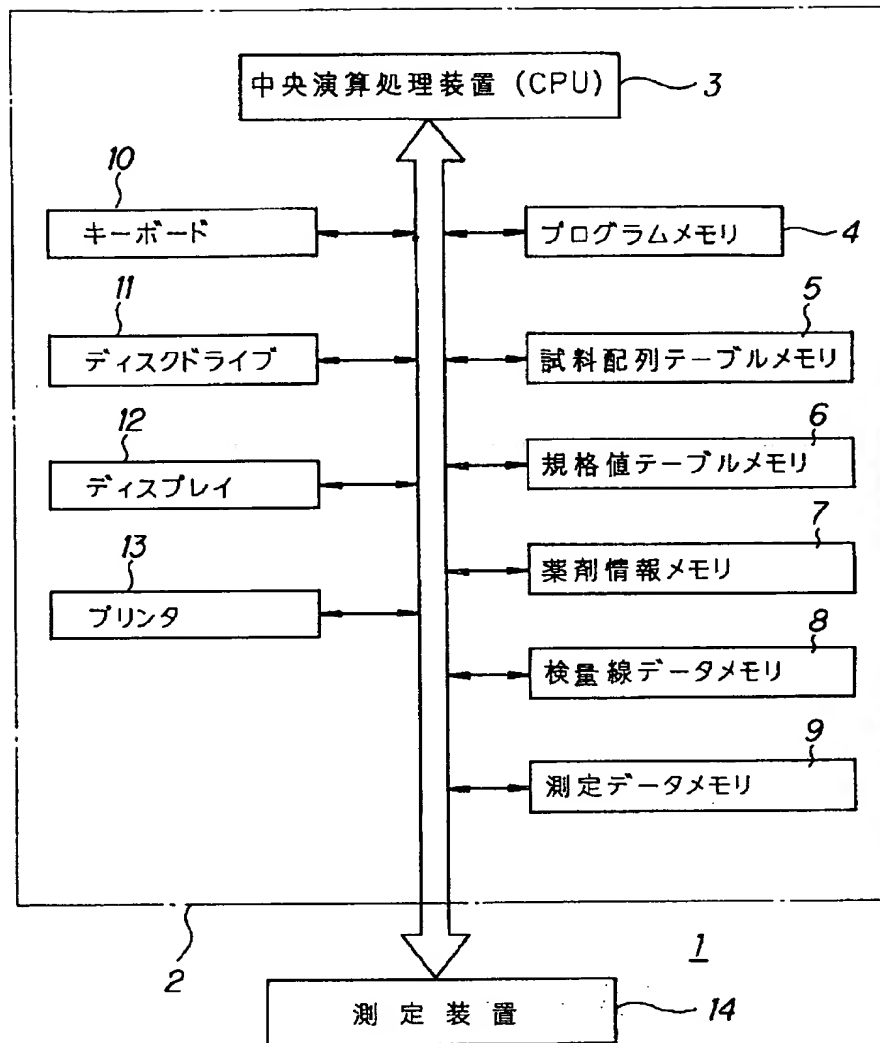
【図2】図1の装置の動作を説明するフローチャートである。

【図3】本発明の他の実施例によるエンドトキシン測定装置の構成図。

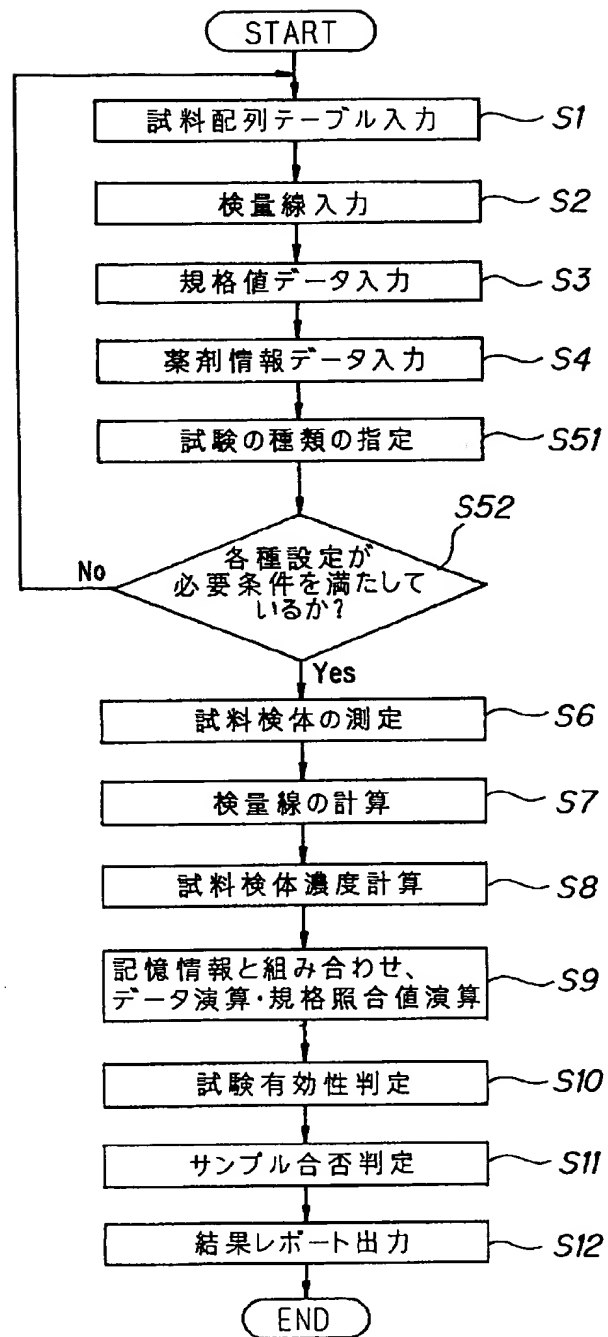
【符号の説明】

- | | | |
|----|----|---------------|
| 10 | 1 | エンドトキシン測定装置 |
| | 2 | コンピュータシステム |
| | 3 | 中央演算処理装置（CPU） |
| | 4 | プログラムメモリ |
| | 5 | 試料配列テーブルメモリ |
| | 6 | 規格値テーブルメモリ |
| | 7 | 薬剤情報メモリ |
| | 8 | 検量線データメモリ |
| | 9 | 測定データメモリ |
| | 10 | キーボード |
| 20 | 11 | ディスクドライブ |
| | 12 | ディスプレイ |
| | 13 | プリンタ |
| | 14 | 測定装置 |

【図1】



【図2】



【図3】

